

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/005852

International filing date: 29 March 2005 (29.03.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2004-100089  
Filing date: 30 March 2004 (30.03.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 09 June 2005 (09.06.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2 0 0 4 年 3 月 3 0 日

出 願 番 号  
Application Number: 特 願 2 0 0 4 - 1 0 0 0 8 9

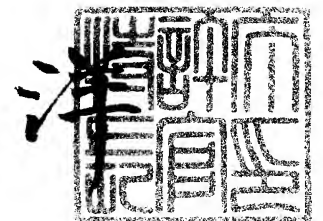
パリ条約による外国への出願  
に用いる優先権の主張の基礎  
となる出願の国コードと出願  
番号  
J P 2 0 0 4 - 1 0 0 0 8 9  
The country code and number  
of your priority application,  
to be used for filing abroad  
under the Paris Convention, is

出 願 人  
Applicant(s): 不二製油株式会社

2 0 0 5 年 5 月 2 5 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川



|           |                             |
|-----------|-----------------------------|
| 【書類名】     | 特許願                         |
| 【整理番号】    | PP14480MW                   |
| 【あて先】     | 特許庁長官殿                      |
| 【国際特許分類】  | A23J 3/16                   |
| 【発明者】     |                             |
| 【住所又は居所】  | 大阪府泉佐野市住吉町1番地不二製油株式会社阪南事業所内 |
| 【氏名】      | 加藤 裕之                       |
| 【発明者】     |                             |
| 【住所又は居所】  | 大阪府泉佐野市住吉町1番地不二製油株式会社阪南事業所内 |
| 【氏名】      | 坂田 哲夫                       |
| 【発明者】     |                             |
| 【住所又は居所】  | 大阪府泉佐野市住吉町1番地不二製油株式会社阪南事業所内 |
| 【氏名】      | 勝丸 裕子                       |
| 【特許出願人】   |                             |
| 【識別番号】    | 000236768                   |
| 【住所又は居所】  | 大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号        |
| 【氏名又は名称】  | 不二製油株式会社                    |
| 【代表者】     | 浅原和人                        |
| 【手数料の表示】  |                             |
| 【予納台帳番号】  | 029377                      |
| 【納付金額】    | 21,000円                     |
| 【提出物件の目録】 |                             |
| 【物件名】     | 特許請求の範囲 1                   |
| 【物件名】     | 明細書 1                       |
| 【物件名】     | 要約書 1                       |

【書類名】 特許請求の範囲

【請求項 1】

大豆蛋白溶液または大豆蛋白スラリーを加熱処理した後にトランスグルタミナーゼを作用させることを特徴とする大豆蛋白の製造法。

【請求項 2】

大豆蛋白スラリーが脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させた酸沈殿スラリーである請求項 1 の製造法。

【請求項 3】

大豆蛋白溶液が脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させて中和した大豆蛋白溶液である請求項 1 の製造法。

【請求項 4】

請求項 1 ～ 3 のいずれかの方法により製造された大豆蛋白及び肉原料を混合成型し、加熱することを特徴とする肉加工食品の製造法。

【書類名】 明細書

【発明の名称】 大豆蛋白の製造法及びこの大豆蛋白を用いた肉加工食品の製造法

【技術分野】

【0001】

この発明は、肉加工食品に練り込むのに適した粉末状の大豆蛋白の製造法及びこれを利用した肉加工食品の製造法に関する。

【背景技術】

【0002】

従来より、かまぼこ、ちくわ、ハム・ソーセージなどの魚肉練製品、蓄肉加工食品は物性向上、コスト安定化や歩留り向上等の理由から、大豆蛋白に代表される植物性蛋白で魚肉、蓄肉の一部を代替して使用することが行われてきた。その際、大豆蛋白の求められる機能としてゲル化力や乳化力等がある。

【0003】

一方、トランスグルタミナーゼを利用して食用蛋白を架橋改質する方法が知られている。この酵素は、ペプチド鎖内にあるグルタミン残基の $\gamma$ -カルボキシアミド基のアシル転移反応を触媒する酵素である。このトランスグルタミナーゼは、アシル受容体としてのタンパク質中のリジン残基の $\epsilon$ -アミノ基に作用し、タンパク質分子の分子内において及び分子間において $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glu)-Lys 架橋結合を形成する。また、水がアシル受容体として機能するときは、グルタミン残基が脱アミド化されてグルタミン酸残基になる反応を進行させる。トランスグルタミナーゼの大豆蛋白に対する態様に関しては、特許文献1や特許文献2にみられるように、トランスグルタミナーゼを使用して蛋白のゲル物性を改良し、これらのゲルにかたさや弾力性を付与してきた。

【0004】

しかし、大豆蛋白製造工程において、単にトランスグルタミナーゼを利用して蛋白のゲル物性を上げるだけでは、ソーセージなどの肉加工食品において分離大豆蛋白の機能（ゲル化力や乳化力など）を発揮することはできない。

それは、大豆蛋白の乳化性も向上させなければならないからである。

ところが、本発明者等の研究の結果、従来のようなトランスグルタミナーゼを利用した分離大豆蛋白は、ゲル物性は向上するものの、乳化性は逆に低下し、ソーセージ等の肉加工食品の食感が硬くなる物性は向上しないという知見を得ている。

【0005】

【特許文献1】 特開昭58-149645号公報

【特許文献2】 特開昭64-27471号公報

【特許文献3】 特公平1-50382号公報

【特許文献4】 特開平1-300889号公報

【非特許文献1】 「昭和63年度日本水産学会秋期大会講演要旨集」167頁

【非特許文献2】 「平成2年度日本水産学会春季大会講演要旨集」219頁

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

この発明は、トランスグルタミナーゼを利用してゲル物性及び乳化性両者を向上させる大豆蛋白の製造法を目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明者等は、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、脱脂豆乳の酸沈殿カードスラリーまたはその中和液を予め熱処理し、これにトランスグルタミナーゼを作用させることにより上記課題を達成できることを見出し本発明を完成するに至った。

即ち、本発明は、大豆蛋白溶液または大豆蛋白スラリーを加熱処理した後にトランスグルタミナーゼを作用させることを特徴とする大豆蛋白の製造法である。

大豆蛋白スラリーは脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させた酸沈殿スラリー

一が適当である。

大豆蛋白溶液は脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させて中和した大豆蛋白溶液が適当である。

この加熱は、70℃～210℃で1秒～60分、好ましくは100℃～160℃で1秒～60秒することが出来る。

また、本発明は、前記方法で製造した大豆蛋白及び肉原料を混合成型し、加熱することを特徴とする練製品の製造法である。

#### 【発明の効果】

##### 【0008】

本発明の方法により、ゲル化力及び乳化力を同時に満足するソーセージ物性（ソーセージの食感）を向上させる大豆蛋白の製造が可能となり、これまでの大豆蛋白高物性化の一般的手法であった、乾式・湿式加熱処理や酸沈殿カード水洗処理といった高コストかつ環境負荷の高い方法を選択せずとも、ソーセージ物性に高物性を反映させることができる大豆蛋白の製造が可能となったものである。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

##### 【0009】

本発明の加熱処理は、脱脂大豆に加水してスラリーとなし、おからを除去して豆乳となし、該豆乳を等電点沈殿させてホエーを除き沈殿した酸沈殿カードを加水して酸沈殿スラリーとなしこれを中和して大豆蛋白溶液となし、噴霧乾燥などして粉末状の分離大豆蛋白を製造する工程において、噴霧乾燥前の水系下でいずれの工程において加熱しても良いが、脱し大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させた酸沈殿スラリーまたは、この酸沈殿スラリーを中和した大豆蛋白溶液を加熱処理することが好ましい。

このときの酸沈殿スラリーの乾燥固形分濃度は25重量%以下、好ましくは15重量%以下が適当である。下限は1%あるいはそれより低い濃度でも良いが生産コストがかかるので通常10%以上が適当である。

##### 【0010】

また中和した大豆蛋白溶液の乾燥固形分濃度は粘度が上昇するので20重量%以下、好ましくは15重量%以下が適当である。この場合も下限は1重量%未満でも可能であるが生産コストがかかるので通常10重量%以上が適当である。

また、このときの加熱処理は、70℃～210℃で1秒～60分、好ましくは100℃～160℃で1秒～60秒することが出来る。

本発明に用いる脱脂大豆は、大豆から大豆油を圧搾、溶剤抽出した残りの低変性脱脂大豆を用いることができる。

脱脂大豆から水系下に脱脂豆乳を抽出する態様としては、脱脂大豆に水を加えて攪拌などしてスラリー状となし、遠心分離等しておからと脱脂豆乳を分離して脱脂豆乳を得ることが出来る。その他濾過などの固液分離手段を利用することも出来る。

##### 【0011】

また、この酸沈殿カードにアルカリを加えて中和し大豆蛋白溶液となし加熱処理することが出来る。

加熱処理した後トランスグルタミナーゼ処理して、酸沈殿スラリーの場合は中和して、大豆蛋白溶液の場合はそのまま噴霧乾燥などして粉末状の大豆蛋白を製造することが出来る。

本発明において重要なことは、トランスグルタミナーゼを作用させる前に予め酸沈殿スラリーまたはその中和液を加熱処理することである。

このようにして得られた大豆蛋白はゲル化力と乳化力の両方に優れた大豆蛋白となるのである。加熱処理とトランスグルタミナーゼ処理のいずれの条件が欠けてもゲル化力と乳化力を同時に満足することが出来ない。

前記加熱処理を行わない、もしくは加熱が不十分であると、たとえトランスグルタミナーゼを作用させても得られる大豆蛋白のゲル化力は十分でも、乳化力が大きく低下し、ソーセージに利用した場合に大豆蛋白としての機能を発揮できなくなってしまう。

#### 【0012】

この加熱処理は、通常70℃～210℃で1秒～60分、間接加熱、直接蒸気吹き込み加熱など利用することができるが、好ましくは100℃～160℃で1秒～60秒の直接蒸気吹き込み加熱が適当である。加熱が弱いと蛋白への熱変性が十分でなく、逆に強すぎると熱変性が強すぎて逆に物性（ゲル化力や乳化力）低下といった悪影響を受ける。

#### 【0013】

本発明に用いるトランスグルタミナーゼには、カルシウム非依存性のものとカルシウム依存性のもののいずれを用いてもよい。前者の例としては微生物由来のもの（例えば、特許文献2参照）をあげることができる。後者の例としてはモルモット肝臓由来のもの（特許文献3参照）、魚由来のもの（例えば、非特許文献1及び非特許文献2参照）をあげることができる。この他、遺伝子組み替えにより製造されるもの（特許文献4参照）等、いずれのトランスグルタミナーゼでも用いることができ、起源及び製法に限定されることはない。但し、機能性及び経済性の点から、好ましくはカルシウム非依存性のものが適当であり、上述の微生物由来のトランスグルタミナーゼ（特許文献2参照）は、その例である。

#### 【0014】

尚、本発明でいうトランスグルタミナーゼの活性単位は、次のようにして測定され、かつ定義される。即ち、ベンジルオキシカルボニル-L-グルタミニルグリシンとヒドロキシシアミンを基質として反応を行い、生成したヒドロキサム酸をトリクロル酢酸存在下で鉄錯体を形成させた後、525nmの吸光度を測定し、ヒドロキサム酸の量を検量線より求め、活性を算出する（特許文献2参照）。

#### 【0015】

前述したように本発明において、トランスグルタミナーゼを作用させる前に、脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させてから加熱するか、脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させて中和してから加熱することが好ましい。

このときのトランスグルタミナーゼの添加割合は、豆乳中の粗蛋白あたり以下のようになる。

例えば、トランスグルタミナーゼの量は脱脂豆乳の粗蛋白質1gあたり0.01～100ユニット（U）という広範な範囲を使用しうるが、一度加熱した蛋白溶液はトランスグルタミナーゼを作用させることで粘度が上昇しやすく、反応が進みすぎるとゲル化も起こしてしまうため、大量生産に使用するときには、1.0U未満であるのがよく、より好ましくは0.05～0.7Uが適当である。トランスグルタミナーゼの量が0.01U未満の場合には、ゲル物性向上効果が充分でなく、100Uを超える場合には反応制御が困難になる。

#### 【0016】

本発明において、トランスグルタミナーゼを作用させる温度は20～80℃、好ましくは40～60℃が適当である。温度が20℃未満では酵素反応が遅く、80℃以上では酵素の失活が促進される。

#### 【0017】

本発明において、トランスグルタミナーゼの作用時間は0.01～120分、好ましくは1～60分が適当である。反応時間が極端に短い場合には、十分な反応効果が得られず、長い場合には反応液の粘度が上昇するだけでなく、溶液中に菌の増殖を誘発し、腐敗する恐れがある。

#### 【0018】

本発明において、トランスグルタミナーゼを反応させた脱脂豆乳酸沈殿カードまたはその中和物は、公知の加熱殺菌処理、及び噴霧乾燥などの乾燥手段を利用して乾燥して粉末状大豆蛋白とすることが出来る。

#### 【0019】

以上のように、本発明の方法により、ゲル化力及び乳化力の両者を向上させた大豆蛋白の製造が可能となり、これまでの大豆蛋白高物性化の一般的手法であった、乾式・湿式加熱処理や酸沈殿カード水洗処理といった方法を選択せずとも、ソーセージ物性に高物性を

反映させることができる大豆蛋白の製造が可能となったものである。

#### 【0020】

次に、本発明の方法により得られた大豆蛋白を用いた肉加工食品の製造法について説明する。

即ち、本発明は、前記の方法により製造された大豆蛋白及び肉原料を混合成型し、加熱することを特徴とする肉加工食品の製造法である。

具体的には、前記大豆蛋白、肉及び水をブレンドまたは細断しケーシングに充填し加熱して肉加工食品を製造することが出来る。

本発明の肉加工食品はソーセージ、フランクフルトまたはその他の肉製品を例示することが出来る。

本発明に用いる肉は前記分離大豆蛋白のゲル化力と乳化力を発揮できる鳥獣肉、特に畜肉が適当である。特に好ましい肉材料は、豚肉、牛肉および鶏肉から骨を除いたもの、豚肉切り落とし、牛肉切り落とし、および豚背脂を含む、肉材料である。

本発明において肉が脂に富んだ肉であるか、あるいは後で獣脂を添加することがこの発明の大豆蛋白のゲル化力と乳化力を発揮させるのに好適である。

本発明に用いる肉は、該肉加工食品中に30～70重量%、好ましくは35～50重量%が適当である。

本発明に用いる大豆蛋白は前述の方法により製造することが出来る。

本発明に用いる大豆蛋白は該肉加工食品中に0.1～10重量%、好ましくは1～5重量%が適当である。

本発明に用いる水は畜肉加工食品中20～60重量%、好ましくは25～40重量%添加することが出来る。

本発明において、保存料、香味料、または着色料など公知の食品添加物を用いることが出来る。

本発明におけるブレンドまたは細断手段は、ミキサーやサイレントカッターなどの公知の手段を採用することが出来る。

本発明に用いるケーシングは公知の食用ケーシングを利用することが出来る。

該ケーシングに充填する手段は公知の練製品充填機などを利用することが出来る。

ケーシングに充填した後加熱処理して目的の畜肉加工食品を得ることが出来る。

この加熱は、内部温度60～90℃、好ましくは65℃～80℃にて加熱することが出来る。

以上のようにしてソーセージ、フランクフルトなどの肉加工食品を製造することが出来る。

#### 【0021】

以上のようにして得られた肉加工食品に関して、本発明のように加熱処理とトランスグルタミナーゼ処理をした大豆蛋白を用いた肉加工食品は、かかる処理をしない大豆蛋白を用いた肉加工食品に比べ肉本来の食感を損なわず、硬さの有る歯切れの良い食感をもつものである。

例えば、得られた肉加工食品をレオナー等で測定したときに、大豆蛋白を用いた畜肉加工食品に比べ本発明の大豆蛋白を用いたものはその破断荷重が上昇するものである。

以下、実施例により本発明の実施態様を具体的に説明する。

#### 【0022】

＜実施例1～4および比較例1～3＞

低変性脱脂大豆100重量部に対して、水1000重量部を添加して40℃、30分間抽出を行った。抽出後、遠心分離でオカラを除き脱脂豆乳を得た。

これらを塩酸を用いてpH4.5に調整して等電点沈殿させ、遠心分離で酸沈殿カードを得て、これを加水し水酸化ナトリウムで中和液（固形分10重量%）を得た。

ここで、直接蒸気加熱処理を未処理（比較例1、2）、110℃×10秒（実施例1）、140℃×10秒（実施例2）、140℃×30秒（実施例3、比較例3）を実施して加熱処理済酸沈殿カード中和液を得た。



ここに粗蛋白質 1 g に対して無添加（比較例 1、3）及び 0.5 U（実施例 1～3、比較例 2）のトランスグルタミナーゼ（TG-S マイルド（味の素（株）製）を添加し、50℃・30 分反応させた。140℃で 10 秒の加熱後、噴霧乾燥にて各分離大豆蛋白を得た。

#### 【0023】

得られた分離大豆蛋白のゲル物性及び乳化性を確認した。ゲル物性は、各大豆蛋白の 18% 水溶液を 80℃にて 30 分加熱した時の加熱ゲル強度をレオメーター（山電社製、プランジャー球直径 8 mm にて測定したゼリー強度）で評価した。

乳化性は、2% 食塩を含む 1% 大豆蛋白溶液 4 部に大豆油を 1 部加えてホモゲナイザーにて攪拌させ、この乳化物を 500 倍に水で希釈して、吸光光度計にて 500 nm での吸光度を調べた。

#### 【0024】

（表 1）

|       | 予備加熱      | TG 処理 | ゼリー強度 (g・cm) | 乳化性 (OD500) |
|-------|-----------|-------|--------------|-------------|
| 実施例 1 | 110℃×10 秒 | ○     | 312          | 0.288       |
| 実施例 2 | 140℃×10 秒 | ○     | 289          | 0.295       |
| 実施例 3 | 140℃×30 秒 | ○     | 258          | 0.388       |
| 比較例 1 | —         | —     | 188          | 0.280       |
| 比較例 2 | —         | ○     | 322          | 0.242       |
| 比較例 3 | 140℃×30 秒 | ○     | 122          | 0.441       |

#### 【0025】

（表 1）より予備加熱処理のみでは乳化性は上がるもののゲル物性は低下し、トランスグルタミナーゼ処理のみではゲル物性は向上するものの乳化性は低下する。両方の処理を行うことで、ゲル物性と乳化性の両方を向上させることができた。

#### 【0026】

前記実施例 1～3 及び比較例 1～3 で得られた各粉末状大豆蛋白素材大豆蛋白粉末と豚脂、水を前述の割合であらかじめ混合し、エマルジョンカード（乳化物）を得た。これと、豚ウデ肉、チキンすり身、豚脂、小麦粉および水をそれぞれ 5 部、20 部、25 部、15 部、5 部および 30 部の割合で混合カッティングし、調味料を添加してさらに混合し、コラーゲンチューブに詰め、65℃で乾燥、70℃でくん煙、75℃で蒸煮を行ってソーセージ（それぞれ試料 1、2、3、4 及び 5）を得た。

#### 【0027】

このようにして得た試料 1～5 のソーセージをそれぞれ評価した結果を下記表 2 に示す。食感 は 10 名のモニターにより 1～5 点の 5 段階評価の官能評価にて行い、全員の点数の平均を算出した（ソーセージが硬く噛み応えのある程点数の高いものとした。）。また、このソーセージのテクスチャー解析を行うべく、テクスチャーアナライザー（TA・XT2：栄弘精機製）で測定した。

#### 【0028】

（表 2）

|       | テクスチャー解析 |       |       |       |
|-------|----------|-------|-------|-------|
|       | 官能評価 (点) | 荷重    | 凝集性   | 付着性   |
| 実施例 1 | 2.9      | 254.3 | 0.448 | 113.9 |
| 実施例 2 | 3.4      | 283.8 | 0.477 | 135.4 |
| 実施例 3 | 4.8      | 329.7 | 0.480 | 158.3 |
| 比較例 1 | 2.2      | 247.5 | 0.446 | 110.4 |
| 比較例 2 | 1.7      | 220.1 | 0.431 | 94.9  |
| 比較例 3 | 2.6      | 250.2 | 0.447 | 111.8 |

#### 【0029】

（表２）より、特にゲル物性と乳化活性両者を兼ね備えた実施例３はソーセージにおいてもその機能を発揮させることができた。

【産業上の利用可能性】

【００３０】

本発明により、大豆蛋白の物性と乳化性の両方を向上させることができ、低コストの手法で、ソーセージなど畜肉加工食品にその高物性を反映させることができるようになった。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 この発明は、トランスグルタミナーゼを利用してゲル物性及び乳化性両者を向上させる大豆蛋白の製造法を目的とする。

【解決手段】 大豆蛋白溶液を加熱処理した後、トランスグルタミナーゼ処理することを特徴とする分離大豆蛋白の製造法。

【選択図】 なし。

## 出願人履歴

0 0 0 2 3 6 7 6 8

19931119

住所変更

大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号  
不二製油株式会社